

PATENT
Docket No. 32860-000834/US

IN THE U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicants: Walter GUMBRECHT et al.
Int'l Application No.: PCT/DE2003/002444
Application No.: **NEW APPLICATION**
Filed: January 21, 2005
For: **METHOD FOR PERFORMING HIGH-THROUGHPUT
ANALYSES AND DEVICE FOR CARRYING OUT THIS
METHOD**

LETTER

Customer Service Window
Randolph Building
401 Dulany Street
Alexandria, VA. 22314
Mail Stop PCT

January 21, 2005

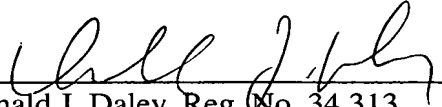
Sir:

Amended sheets are attached hereto (which correspond to Article 34 amendments or to claims attached to the International Preliminary Examination Report), as required by 35 U.S.C. § 371(c)(3).

Respectfully submitted,

HARNESS, DICKEY & PIERCE, P.L.C.

By:


Donald J. Daley, Reg. No. 34,313

DJD:smk

P.O. Box 8910
Reston, Virginia 20195
(703) 668-8000

Patentansprüche

1. Verfahren für eine Hochdurchsatzanalyse, bei dem Proben im Durchlauf analysiert werden und bei dem auf einen Träger auf-
5 gebrachte Bio-Chips mit einer Vielzahl von Messstellen (Spots) verwendet werden, mit folgenden Arbeitsschritten:

- In einem ersten (A) von mehreren Arbeitsschritten wird die Probenflüssigkeit auf die sich auf einem Träger (2, 2a) befindlichen Spots des Biochip, welche ein Spot-Array (11, 11a) bilden, aufgebracht;
10
- im abschließenden Arbeitsschritt (D) wird die Messung durchgeführt,
wobei zunächst von oberhalb des Trägers (2, 2a) auf die auf dem Träger (2, 2a) befindlichen Spots des Spot-Arrays (11, 11a) Spül- bzw. Reagenzflüssigkeiten aufgebracht wer-
15 den und
- dann von unterhalb des Trägers (2, 2a) elektrische Messungen durchgeführt werden;
- dabei wird bei allen Arbeitsschritten (A bis D) gleichzei-
20 tig an unterschiedlichen Biochips bzw. Spots des Spot-Arrays (11, 11a) gearbeitet und
- es erfolgt durch Bewegung des Trägers (2, 2a) eine fortlaufende Messung mit durch den Bewegungstakt des Trägers (2, 2a) vorgebbaren Geschwindigkeit.

25

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass in wenigstens einem weiteren Arbeitsschritt (B) eine Temperierung und/oder Klimatisierung der Messproben erfolgt, wozu wenigstens ein Spot-Array (11, 11a) von einem Hohlkörper (24, 34, 40) umschlossen wird, um eine räumliche Abtrennung zu an-
30 deren Spot-Arrays (11, 11a) zu schaffen, und wozu der Hohlkörper (24, 34) derart auf die Biochip-Anordnung (1, 1a, 1b) aufgesetzt wird, dass er mit einer Umfangswand (25) wenigstens ein Spot-Array (11, 11a) dichtend umgrenzt.

35

3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass nach dem weiteren Arbeitsschritt (B) zur Temperierung ein Ar-

beitsschritt (C) als Verweilzeit der Messprobe auf dem Biochip dient.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Temperierung bei allen der Probenzuführung folgenden Arbeitsschritten (B - D), insbesondere auch bei der Messung (D), erfolgt.

5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Hohlkörper (24, 40) zur Klimatisierung einer über dem Spot-Array (11, 11a) vorhandenen Gasphase dient.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass ein Träger (2, 2a) aus einem Flachmaterial verwendet wird.

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass eine Biochip-Anordnung (1b) mit einem bandförmigen Träger (2, 2a) aus flexiblem Material verwendet wird.

8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass der bandförmige Träger (2, 2a) von einer Rolle abgewickelt und durch ein Analysegerät (16) hindurch transportiert wird.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass ein Träger (2) mit fester Zuordnung von elektrisch auslesbaren Biochips (4) verwendet wird.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, gekennzeichnet durch die Verwendung eines Trägers (2, 2a), auf dem analysespezifische Daten vorhanden sind.

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass zur Temperatursteuerung eines Spot-Arrays (11, 11a) bzw. einer dort stattfindenden Reaktion von dem dem Array gegenüberliegenden Rückseitenbereich des Trägers (2, 2a) her Wärme zu- bzw. abgeführt wird.

12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass zur Wärmezufuhr- bzw. Wärmeabfuhr der Rückseitenbereich mit einem kühl- bzw. heizbaren Körper (29) in Flächenkontakt gebracht wird.

13. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach Anspruch 1 oder einem der Ansprüche 2 bis 12, mit einer Biochip-Anordnung aus einzelnen Bio-Chips mit sog. Mess-Spots, wobei die Biochips (1, 1a, 1b) auf einem gemeinsamen Träger (2, 2a) aus Flachmaterial mit gegenseitigem Abstand fest angeordnet sind und der Träger (2, 2a) in vorgebbarem Takt weiterbewegbar ist, wobei dem Träger (2, 2a) Mittel (19) zum Zuführen von Messflüssigkeit sowie Spül- und Reagenzflüssigkeiten einerseits und Mittel (34, 38) zur Durchführung der Messung andererseits zugeordnet sind und wobei der Biochip (4) mit jeweils einem Spot-Array (11, 11a) und elektrische Kontaktflächen (9) elektrisch auslesbar ist, dadurch gekennzeichnet, dass die Mittel (19) zum Zuführen der Messflüssigkeit sowie der Spül- bzw. Reagenzflüssigkeiten zu den Spot-Arrays (11) oberhalb des Trägers (2, 2a) und die Mittel (34, 38) zur Durchführung der Messung an den Kontaktflächen (9) unterhalb des Trägers (2, 20) angeordnet sind.

14. Vorrichtung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Spot-Arrays (11) in einer Vertiefung angeordnet sind.

15. Vorrichtung nach Anspruch 13 oder 14, dadurch gekennzeichnet, dass auf dem Träger (2, 2a) Daten zur Analysesteuerung und Daten über die Art und Position der Spot-Arrays (11, 11a) vorhanden sind.

16. Vorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Daten in wenigstens einem Speicherchip (44) hinterlegt sind.

17. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 13 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass der Träger (2, 2a) im Wesentlichen aus einem Flachmaterial gebildet ist.
- 5 18. Vorrichtung nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass der Träger (2, 2a) als ein flexibles Band ausgebildet ist.
- 10 19. Vorrichtung nach Anspruch 17 oder 18, dadurch gekennzeichnet, dass die Biochips (4) in einer elektrisch isolierenden Vergussmasse (13) eingebettet sind, wobei in der Vergussmasse (19) eine das Spot-Array (11) freigebende und eine Vertiefung bildende Ausnehmung (14) vorhanden ist.
- 15 20. Vorrichtung nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass die die Ausnehmung (14) umfassende Oberseite (21) der Vergussmasse (13) als ebene Fläche ausgebildet ist.
- 20 21. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 13 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass der Träger (2, 2a) eine sich in seiner Längsrichtung erstreckende Perforation (15) aufweist.
- 25 22. Vorrichtung nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass der Träger (2, 2a) eine beidseitige Perforation (15) und eine Breite von 36 mm aufweist.

Beschreibung

Verfahren für Hochdurchsatzanalysen und Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens

5

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren für die Hochdurchsatzanalyse und eine zugehörige Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens gemäß dem Oberbegriff des Patentanspruches 1 bzw. 16. Die Hochdurchsatzanalyse ist als Terminus 10 "HTS" (= High Throughput Screening) in der biochemischen Analytik bekannt.

Ein herkömmlicher - optisch auslesbarer - Biochip umfasst einen miniaturisierten Träger, auf dessen Oberfläche ein Array 15 kleinster Substanzmengen, sog. Spots aufgebracht ist. Die Spots enthalten an der Trägeroberfläche immobilisierte Sondenmoleküle, meist Nucleotide mit bis zu etwa 30 Basen (DNA-Chip). Im Zuge einer analytischen Untersuchung wird auf das Spot-Array eine Probenflüssigkeit aufgebracht, die Nukleinsäuren mit einer optisch wirksamen Markierung, sog. Zielmoleküle 20 enthält. Hinsichtlich ihrer Basensequenz zu den Sondenmolekülen komplementäre Zielmoleküle lagern sich an diesen an (Hybridisierung). Nach der Entfernung nicht hybridisierter Zielmoleküle, kann das Ergebnis der Hybridisierung anhand der 25 Markierung der Zielmoleküle optisch ausgelesen werden.

Derartige Analyseverfahren werden beispielsweise eingesetzt bei der Medikamentenentwicklung, in der Pharmakologie und Pharmakokinetik zur Erforschung der Wirkung und Nebenwirkung 30 von Medikamenten, in der Diagnostik zur Identifizierung von Erregern und zur Bestimmung von Medikamentenresistenzen, sowie bei der Nahrungsmittelkontrolle zur Identifizierung gentechnisch veränderter Nahrungsmittel.

35 Bei herkömmlichen Analyseverfahren werden beispielsweise aus WO 00/73504 A2 bekannte Biochips eingesetzt, bei denen auf einem Träger in Objektglasgröße ein einziges Spot-Array vor-

handen ist. Zur Durchführung von HTS-Analysen müssen aufgrund der hohen Zahl von Einzelbestimmungen bzw. Hybridisierungen oft sehr viele Biochips vorbereitet, datenmäßig erfasst und in einem Vorratsbehälter gelagert werden. Weiterhin muss je-
5 der einzelne Biochip zu einer Analyse- und Detektionsvorrichtung transportiert werden, wo er mit Probenflüssigkeit versetzt wird. Nach Ablauf einer Reaktionszeit erfolgt ein Spülschritt, mit dem die Probenflüssigkeit wieder entfernt wird. Es folgt die Detektion bzw. das Auslesen des Analyseergebnis-
10 ses und schließlich die Entfernung des verbrauchten Biochips aus der Analyse- und Detektionseinrichtung. Es sind also eine Vielzahl von zeitaufwändigen Manipulationen erforderlich.

Daneben ist aus der WO 00/63705 A1 eine Anordnung und ein
15 Verfahren zum Übertragen kleiner Substanzvolumina bekannt, bei dem im Durchlauf mittels einer geeigneten Anordnung die einzelnen Spots eines Bio-Chips ortsgenau mit Reagenzien bestückt werden. Im Einzelnen sind dafür im Abstand über einem durchlaufenden Band dreidimensional bewegbare Pipetten vor-
20 handen, die aus unterschiedlichen Vorratsbehältern über Durchbrüche in einem Laufband unterschiedliche Flüssigkeitsvolumina entnehmen und an den einzelnen Spot-Punkten eines Chips ablegen. Über die Durchführung von Messungen mit solchermaßen bestückten Biochips werden hier keine Aussagen ge-
25 macht.

Weiterhin sind aus der US 4 071 315 A und der US 4 969 738 A Einrichtungen bekannt, bei denen auf einem Trägerband einzelne Chips angeordnet sind, wobei sich das Trägerband im Durch-
30 lauf bewegt und an einzelne Positionen der Chips Maßnahmen durchgeführt und Messungen vorgenommen werden. Im Einzelnen erfolgen dabei die Messungen optisch. Daneben wird in der DE 39 08 123 A1 ein Analysegerät zur Bestimmung eines Parameters einer auf einem Reagenzträger aufbringbaren und durch
35 eine Messeinrichtung bestimmbaren Probe beschrieben, bei der ebenfalls ein durchlaufendes Band zur Durchführung von spezi-

fischen Maßnahmen in einzelnen Stationen verwendet wird. Schließlich ist aus der US 6 413 474 A eine Messeinrichtung mit einem Halbleitersensorchip bekannt, der sich auf einem Träger befindet und bei dem eine Messkammer gebildet ist, in die über permeable Membranen selektiv Substanzen eingebracht werden können.

- Ausgehend vom vorstehend abgehandelten Stand der Technik ist es Aufgabe der Erfindung, ein verbessertes Verfahren für Hochdurchsatzanalysen vorzuschlagen und eine dafür geeignete Vorrichtung zu schaffen. Ziel ist es dabei insbesondere, die Anzahl der erforderlichen Manipulationsschritte und damit den Zeitaufwand für Hochdurchsatzanalysen zu verringern.
- 15 Die Aufgabe wird bei einem Verfahren der eingangs genannten Art gemäß Patentanspruch 1 und bei einer Vorrichtung mit einer Biochip-Anordnung gemäß Patentanspruch 13 gelöst. Weiterbildungen des Verfahrens und